

WOLFGANG WEISSER

2

**Experimentelle Untersuchungen
über die Wirksamkeit eines
Parainfluenza-3-Lebendimpfstoffes
bei Kälbern**

INAUGURAL-DISSERTATION

1963

Aus dem Institut für Mikrobiologie und
Infektionskrankheiten der Tiere
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Vorstand: PROF. DR. A. MAYR

Experimentelle Untersuchungen über die Wirksamkeit eines Parainfluenza-3-Lebendimpfstoffes bei Kälbern

Inaugural-Dissertation zur Erlangung
der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-
Universität München von

WOLFGANG WEISSER
aus Tailfingen in Württemberg

MÜNCHEN 1963

Gedruckt mit Genehmigung
der Tierärztlichen Fakultät der
Universität München



Dekan: Professor Dr. K. Ullrich
Referent: Professor Dr. A. Mayr
Tag der Promotion: 26.7.1963

Meinen lieben Eltern



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALTSVERZEICHNIS

A) Einleitung	7
B) Schrifttum	8
1. Einführung	8
2. Morphologische, biologische und chemisch-physikalische Eigenschaften des Myxovirus Parainfluenzae-3	8
3. Züchtung des Parainfluenza-3-Virus in Zellkulturen	9
4. Verbreitung	9
5. Epidemiologie	10
6. Symptome und Verlauf der Erkrankung	11
7. Diagnose und Immunologie	11
8. Bekämpfungsmaßnahmen	12
C) Eigene Untersuchungen	14
I. Material und Methoden	14
1. Virus	14
2. Gewebezüchtung	14
3. Impfstoffherstellung	15
4. Prüfung des Impfstoffes	16
5. Hämagglutination und Hämagglutinationshemmungstest	16
6. Versuchstiere	17
7. Impftechnik	17
8. Entnahme von Nasenschleim- und Blutproben	18
9. Virusreisolierung	19
II. Versuche und Ergebnisse	19
1. Untersuchungen über das Vorkommen von hämagglutinationshemmenden Antikörpern gegen das Myxovirus Parainfluenzae-3 im Serum von Jungkälbern	19
2. Allgemeines zur Impfung	20
3. Serologische Ergebnisse nach der 1. Impfung	20
4. Serologische Ergebnisse nach der 2. Impfung	22
5. Ergebnis der Virusreisolierung aus dem Nasenschleim nach der 1. Impfung	23

6. Zusammenfassende Übersicht über das serologische Verhalten der einzelnen Tiere nach der 1. und 2. Vakzination mit einem Lebendimpfstoff gegen das Virus der Parainfluenza-3, sowie Ergebnisse der Virusreisolierung aus dem Nasenschleim	24
7. Gesundheitskontrolle	34
D) Besprechung der Ergebnisse	35
E) Zusammenfassung	38
F) Literaturverzeichnis	39
G) Lebenslauf	42

A) EINLEITUNG

Erkrankungen der Respirationsorgane haben bei Kälbern in den letzten Jahren zu größeren wirtschaftlichen Verlusten geführt.

Für die Ätiologie dieser Erkrankungen werden neben bakteriellen Infektionen auch verschiedene Virusarten verantwortlich gemacht, da die Symptome durch Sulfonamide und Antibiotika nicht oder nur geringgradig beeinflußt werden können.

In jüngster Zeit gelang es, aus den Respirationsorganen von Kälbern eine Anzahl von Virusarten zu isolieren, die als Erreger ursächlich in Frage kommen können. Neben den Magnoviren (*Miyagawanella bovis*) (13) wurden das Myxovirus Parainfluenzae-3 (62), das Virus der Rhinotracheitis des Rindes (41, 54), ein Rhinovirus (12), Reoviren (47), und neuerdings auch das Virus der Mucosal Disease (Diarrhoevirus) isoliert (34,59).

Umfangreiche serologische Untersuchungen in Südwürttemberg (15,17) und in Bayern (72) weisen nach, daß besonders das Virus der Parainfluenza-3 unter den Kälbern und Rindern weit verbreitet ist. Außerdem konnte das Virus 1959 bei Ausbrüchen der sogenannten „aseptischen oder enzo-otischen Pneumonie“ aus dem Nasenschleim von Kälbern und Jungrindern in Südwürttemberg isoliert werden (13).

Es besteht heute kein Zweifel mehr daran, daß das Parainfluenza-3-Virus einen der häufigsten Erreger von viralen Infektionserkrankungen bei unseren Kälbern darstellt und für zahlreiche Stallenzootien verantwortlich ist. Der Schutz unserer Kälber vor diesem weit verbreiteten Erreger liegt in einer sicheren Prophylaxe. In jüngster Zeit ist ein Parainfluenza-3-Lebendimpfstoff entwickelt worden, mit dem wir vielleicht unsere Kälber wirksam gegen diese Infektionskrankheit schützen können.

Aufgabe vorliegender Untersuchungen war es, die Wirksamkeit und Unschädlichkeit einer Parainfluenza-3-Lebendvakzine unter Praxisverhältnissen bei Kälbern zu untersuchen.

B) SCHRIFTTUM

1.) Einführung

Der Begriff der Myxoviren wurde 1955 von Andrews, Bang und Burnet für eine Gruppe von Viren geprägt, die sich auf Grund ihrer mukoproteolytischen Fähigkeit, dem Besitz eines Hämagglutinins, und anderer gemeinsamer biologischer Eigenschaften ähnlich waren (6).

Chanock und Mitarbeiter isolierten 1957 aus Rachenabstrichen von Kindern mit Erkrankungen der oberen Luftwege das sogenannte Hämadsorptionsvirus Typ HA-1 (23-25). Bei der 1959 von Andrews (7) vorgeschlagenen Nomenklatur wurde das HA-1-Virus als „Myxovirus Parainfluenzae-3“ (PI-3) klassifiziert.

Reisinger und Mitarbeiter berichteten erstmals in den USA über die Isolierung eines Myxovirus bei Rindern mit „shipping fever“, einer respiratorischen Erkrankung des Rindes (Stamm SF-4). Abinanti und Huebner (4) charakterisierten dieses Virus als Myxovirus Parainfluenzae-3, das auch Hämadsorption-Virus, Typ I, genannt wird. In Schweden isolierten Bakos und Dinter (8,30) bei Kälbern mit Mucosal-Disease ähnlichen Erkrankungen einen Parainfluenza-3-Stamm. Bögel konnte das Virus in Westdeutschland (Südwestfalen) 1959 bei Rindern nachweisen (14).

Mit Hilfe von Meerschweinchenimmunsereen ist es möglich, das menschliche Parainfluenza-3-Virus (HA-1) von dem Rindenvirus (SF-4) zu unterscheiden. Die Ergebnisse deuten daraufhin, daß innerhalb des Parainfluenza-3-Virus serologisch und immunologisch unterschiedliche Stämme existieren (2).

2.) Morphologische, biologische und chemisch-physikalische Eigenschaften des Myxovirus Parainfluenzae-3.

In elektronenmikroskopischen Untersuchungen zeigen die Viruspartikel eine runde bis ovale Gestalt. Der Längsdurchmesser beträgt 110–240 m μ (66,61,69). Die Viruspartikel sind nach Stefanov in der Regel homogen, gelegentlich ist aber ein dunkleres Zentrum zu beobachten, das von einer helleren „Membran“ umgeben wird.

Das Virus ist in der Lage, Erythrozyten von Meerschweinchen (4, 8, 14, 39,62), Hühnern (4, 8, 14, 50, 62), Kälbern (14, 39, 62), Schweinen (4) und Menschen der Blutgruppe „0“ zu agglutinieren (62). In der Gewebekultur adsorbieren

die infizierten Zellen Meerschweinchen- und Rindererythrozyten (1,3,4,23). Die Temperaturempfindlichkeit ist relativ gering. Bei + 4°C entsteht nach 14 Tagen ein Titerverlust von 0,5 log, bei 37°C in 24 Stunden ein Titerverlust von 0,7 log (14).

Durch 0,05%iges Formalin wird das Virus innerhalb von 4 Stunden, durch 0,025%iges innerhalb von 8 Stunden bei 35°–37°C inaktiviert (21,42,48,57,73). Es ist äther-, chloroform- und trypsinempfindlich (4,14,40).

3.) Züchtung des Parainfluenza-3-Virus in Zellkulturen

In Nierenzellkulturen von Kälbern (4,8,14,33,35,50,57,62), Schweinen (62) und Affen (4,35,50) läßt sich das Myxovirus Parainfluenzae-3 zur Vermehrung bringen. Ebenso wächst es in Kulturen aus HeLa-Zellen (4,23,27,28) und Amnionzellen des Menschen (26,27,28). Die zytopathogenen Veränderungen der Gewebekulturen sind oft so gering, daß man sie leicht übersehen kann. Sie sind zunächst charakterisiert durch das Auftreten von Zellsynzytien. In der Folge kommt es zu Abkugelungen der Zellen (14). Außerdem entstehen pathologische Mitosen und vielkernige Riesenzellen. 24–48 Stunden post infectionem (p.i.) werden Plaques makroskopisch sichtbar. Im weiteren Verlauf kommt es zur völligen Zerstörung des Zellrasens, die Zellen platzen und lösen sich von der Glaswand ab (14,26,28,33,39,49,50,55,62).

Im Plasma und Kern der Zellen treten eosinophile Einschlüsse auf (14,62). Die intrazytoplasmatischen Einschlüsse bestehen nach Reczko und Bögel (61) aus fadenartigen Strukturen von unregelmäßiger Form mit einem Durchmesser von 5–10 mμ.

Durch spezifische Immunofluoreszenz läßt sich die Bildung von Virusantigen im Zytoplasma der infizierten Zellen sichtbar machen (26,53).

Das Virus kann auch in der Amnionhöhle von 8–9 Tage vorbebrüteten Hühnereiern zur Vermehrung gebracht werden. Die Gewinnung der virus-haltigen Amnionflüssigkeit erfolgt nach einer Inkubation von 5 Tagen bei 35°C (14,48).

4.) Verbreitung

Das Myxovirus Parainfluenzae-3 ist bei Mensch und Rind weit verbreitet. In den USA (1,3,4,11,23,24,37,38,39,51,58), aber auch in Schweden (8,9,32), Dänemark (19,20,21), Holland (67), Australien (52), Indien (51), Italien (51) und in Westdeutschland (15,17,64,65,72) wurde der Nachweis für

Parainfluenza-3-Infektionen serologisch erbracht. Erwachsene wiesen häufiger Antikörper gegen das Virus auf als Kinder (67). Beim Rind wurden hauptsächlich Kälber und Jungtiere untersucht, da respiratorische Erkrankungen bei diesen erfahrungsgemäß mehr Verluste verursachen als bei älteren Tieren (3, 10, 17). Bei Reihenuntersuchungen an gesunden Schlachttieren war der Prozentsatz positiver Serumtiter bei Kälbern niedriger als bei älteren Rindern (3, 9). Mehrmals wurde ein seuchenhaftes Auftreten der Virusinfektion beobachtet. Bei menschlichen Grippeepidemien mit leichtem Verlauf (influenza like disease) war das Parainfluenza-3-Virus nicht unerheblich beteiligt (58). In Schweden wurde bei der sogenannten Umea-Krankheit der Rinder, einer unter dem klinischen Bild der „mucosal disease“ auftretenden Erkrankung in vielen Fällen eine akute Infektion mit dem PI-3-Virus festgestellt (8, 30, 60). In Südwürttemberg konnte Bögel von 1959–1961 das Virus anlässlich von Stallenzootien bei Rindern mit respiratorischen Symptomen mehrmals isolieren (13, 14, 15). In den USA treten Parainfluenza-3-Infektionen vorwiegend zu Beginn der naßkalten Jahreszeit (3), im Anschluß an längere Transporte (45), nach dem Entwöhnen (74), nach der Aufstallung in Mastbetrieben und auf zusammenge-schlossenen Weideplätzen auf (10).

5.) Epidemiologie

Die Ansteckung mit dem Parainfluenza-3-Virus erfolgt durch Kontakt mit infizierten Personen oder Tieren, die das Virus im Nasensekret ausscheiden (1, 14, 22). Beim Rind findet die Virusausscheidung vom 1.—13. Tag nach der Infektion statt, und erreicht am 4. Tag p. i. ihr Maximum (42, 62). Aus Trachealschleim und Lungengewebe von infizierten Kälbern konnte das Virus ebenfalls isoliert werden (1, 14). Ein Teil der infizierten Tiere schied das Virus aus, ohne klinische Krankheitserscheinungen zu zeigen (1, 3, 9, 11, 42, 45, 50). Diese Beobachtung konnte besonders nach künstlicher intranasaler oder intratrachealer Virusübertragung gemacht werden (9, 22, 42, 43). Da das Virus im Rinderstapel weit verbreitet ist, geht es häufig in relativ kurzen Zeitintervallen durch die Bestände (17). Es ist bisher unbekannt, ob zwischen Mensch und Tier eine gegenseitige Übertragung möglich ist (4, 42, 75). Bei Personen, die mit Myxovirus Parainfluenzae-3 infizierte Tiere betreuten, wurden hohe Serumtiter gefunden (75), andererseits wird aber angenommen, daß Rinder für den beim Menschen stark verbreiteten HA-1-Virusstamm weitgehend unempfindlich sind (4, 10).

6.) Symptome und Verlauf

Für die Parainfluenza-3-Infektion des Rindes besteht kein einheitliches Krankheitsbild. Sekundärinfektionen können das klinische Bild wesentlich beeinflussen (10,16). Nach experimentellen Infektionsversuchen an Kälbern konnten seröser bis mukopurulenter Nasenausfluß, erhöhte Atmung, leichter Husten, Lakrimation, geringgradiges Ansteigen der Körpertemperatur, leichte Leukopenie mit nachfolgender leichter Leukozytose beobachtet werden (39, 43,62). Die Inkubationszeit betrug 1–6 Tage (8,22,42,62). Bögel gelang es, durch die Infektion eines kolostrumfrei aufgezogenen Kalbes das klinische Bild einer Viruspneumonie hervorzurufen (14). In den USA wird dem PI-3-Virus eine zunehmende Bedeutung als primäre Ursache des „shipping fever“ beigemessen (45,46). Für diesen komplexen Krankheitsbegriff gelten Rhinitis, trockener Husten, Dyspnoe, Mattigkeit, Freßunlust, Temperaturerhöhung bis 40,5° C und leichte Pneumonie als auffallende Symptome (5,46). Auch bei mildem Verlauf treten relativ hohe Gewichtsverluste auf (46).

Bei der in Schweden vorkommenden Form der bovinen PI-3-Infektion, der „Umea-Krankheit“ der Rinder, wurde festgestellt, daß für die Entstehung des Krankheitsbildes die Beteiligung des Virus der Virus-Diarrhoe mitverantwortlich ist, und zwar in der Regel beim gleichen Tier (30,31). Nach einer Inkubationszeit von 2–8 Tagen treten seröse Konjunktivitis, Rhinitis, exzessive Salivation, mukopurulenter Nasenausfluß, leichter Husten, 2–3 Tage lang Fieber, erosive Stomatitis und Diarrhoe auf (8,9,60). Befallen werden Kälber und erwachsene Rinder. Ältere Tiere werden zur Zeit der Hochträchtigkeit und kurz nach dem Abkalben am härtesten getroffen. Verwerfen kam oft vor (9,60). Während des seuchenhaften Auftretens der Infektion von 1958/59 in Nordschweden entstanden hohe Verluste infolge Enkräftung.

7.) Diagnose und Immunologie

Eine einwandfreie Diagnose kann nur auf Grund des direkten oder indirekten Virusnachweises gestellt werden. Während einer Parainfluenza-3-Infektion beim Rind bilden sich im Blutserum hämagglutinationshemmende, komplementbindende und neutralisierende Antikörper.

a) Hämagglutinationshemmende Antikörper.

Sie erscheinen zwischen dem 3. und 8. Tag p. i. im Serum und erreichen nach 8–14 Tagen ihr Maximum. Dieser Titer kann monatelang konstant bleiben (3,9,42). Titer von 1 : 16 (9,62), 1 : 20 (3) und darüber werden als positiv beurteilt.

b) Komplementbindende Antikörper.

Diese sind zwischen dem 4. und 8. Tag p. i. nachweisbar und erreichen ihren höchsten Titer nach 14 Tagen. Zwei Monate p. i. können sie im Serum nicht mehr nachgewiesen werden. Deshalb eignet sich die Komplementbindungsreaktion besonders gut zur Feststellung einer frisch stattgehabten Infektion. Die Titer sind erheblich niedriger als bei den hämagglutinationshemmenden Antikörpern oder den neutralisierenden Serumantikörpern. Titer von 1 : 8 und darüber werden als positiv angesehen (3,63).

c) Neutralisierende Antikörper.

Sie erscheinen zwischen dem 4. und 14. Tag im Serum, und erreichen ihr Maximum im Verlauf von wenigen Tagen. Noch nach zwei Monaten findet man signifikante Werte (3,9). Der Serumtiter ist etwas niedriger als bei den hämagglutinationshemmenden Antikörpern und wird ab 1 : 4 (9), 1 : 8 (14) bzw. 1 : 10 (3) als Zeichen einer vorangegangenen Infektion betrachtet.

8.) Bekämpfungsmaßnahmen

Eine spezifische Therapie der Parainfluenza-3-Virusinfektion ist nicht bekannt. Mit den derzeit gebräuchlichen Antibiotika und Chemotherapeutika können nur bakterielle Sekundärinfektionen behandelt oder verhütet werden. Daher gilt das Hauptinteresse der prophylaktischen Bekämpfung der Virusinfektion durch geeignete Schutzimpfungen. In den USA sind Vakzinierungsversuche gegen die Parainfluenza-3-Infektion sowohl bei Menschen, als auch bei Rindern durchgeführt worden (22,46,48,57,73–75). Bei der Impfstoffherstellung wurde das Virus durch Formalin inaktiviert (22,48,57,73). Im Verlauf von 2–3 Wochen nach der Impfung konnten im Blutserum der Impflinge signifikante Antikörperanstiege nachgewiesen werden (57,73). Diese Titer waren in der Regel um ein Vielfaches höher als bei solchen Tieren, die mit dem Virus natürlich oder künstlich infiziert worden waren (22,42,57). Für das Rind erwies sich die Applikation der Vakzine in Form einer Mineralölemulsion als besonders wirksam, da die

wäßrige Vakzine in der gebräuchlichen Dosierung die Antikörperproduktion oft nur ungenügend zu stimulieren vermochte (42, 57). Bögel entwickelte 1962 einen Lebendimpfstoff gegen die Parainfluenza-3-Virusinfektion beim Rind. Es gelang ihm durch laufende Passagen auf Kälbernierenkulturen einen im Verlaufe einer Stallenzootie in Südwürttemberg isolierten Parainfluenza-3-Stamm soweit abzuschwächen, daß kolostrumfrei aufgezogene Kälber nach experimenteller Infektion nicht mehr erkrankten, wohl aber spezifische neutralisierende und hämagglutinationshemmende Antikörper ausbildeten (17). Das Virus hat mit zunehmender Passagezahl die Eigenschaft der Synzytienbildung in Kälbernierenkulturen weitgehend verloren. Die Zytopathogenität ging ab der 40. Passage auffällig zurück (18). Bögel schlägt vor, diesen Impfstoff intranasal oder intranasal und intramuskulär zu applizieren. Er beobachtete, daß die aktive Bildung von PI-3-spezifischen Antikörpern bei 42% der Jungrinder und Kälber durch passive Kolostralantikörper gehemmt oder verschleiert wurde. Auf das Haften der Infektion an der Nasenschleimhaut und damit der Ausbildung einer örtlichen Gewebeimmunität hatten diese passiven Antikörper offensichtlich wenig Einfluß (17).

C) EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. Material und Methoden

1.) Virus

Als Ausgangsmaterial für die Impfstoffherstellung diente die 91. Kälbernieren (ENK)-Kulturpassage des Myxovirus Parainfluenzae-3-Stammes Sd-2.*) Für den Hämagglutinationshemmungstest (HAH) wurde der Myxovirus Parainfluenzae-3-Stamm R-2-V herangezogen. Er lag in der 3. und 8. Kälbernierenkulturpassage vor.

2.) Gewebezüchtung

Die Herstellung der Kälbernierenkulturen aus der Nierenrinde von Schlachtkälbern erfolgte nach der Trypsinierungsmethode von Dulbecco, Vogt (36) und Youngner (76). Trypsiniert wurde über Nacht bei $+4^{\circ}\text{C}$. Die Zellen wurden in einer Konzentration von 250 000 Zellen/ml im Anzuchtmedium (78% Earle'sche Lösung, 10% Kälberserum, 10% hydrolysiertes Laktalbumin einer 5%igen Lösung, 2% Phenolrot einer 0,1%igen Lösung, 100 I. E./ml Penicillin und 100 γ /ml Streptomycin) aufgenommen, und bei 37°C stationär gehalten. Nach einmaligem Mediumwechsel am 2. Tag waren die Kulturen in der Regel am 5.–6. Tag zu einem nahezu lückenlosen Zellrasen ausgewachsen. Sie wurden auf Erhaltungsmedium gewechselt (88% Earle, 10% Laktalbumin einer 5%igen Lösung, 2% Phenolrot einer 0,1%igen Lösung, Penicillin und Streptomycin oder 83% Earle, 5% Pferdeserum, 10% Laktalbumin einer 5%igen Lösung, 2% Phenolrot einer 0,1%igen Lösung, Penicillin und Streptomycin). Zur Impfstoffherstellung züchteten wir die Kulturen in Penicillin-Flaschen (250 ml) bzw. Roux-Schalen (90 ml), für die Titration und Virusisolierung in Reagenzgläsern (1,5 ml).

*) Herrn Dr. K. Bögel, Tübingen, sind wir für Überlassung des Virusstammes zu Dank verpflichtet.

3.) Impfstoffherstellung

Die Herstellung der Lebendvakzine mit dem Parainfluenza-3-Stamm erfolgte nach der Methode von Bögel und Liebelt (18). Mit der 91. Kulturpassage des Parainfluenza-3-Virusstammes Sd-2 wurde zunächst eine Roux-Schale beimpft und das Material am 3. Tag p. i. gewonnen. Während der dreitägigen Beobachtungszeit traten keinerlei charakteristische Zellveränderungen auf.

Die Roux-Schale wurde 30 Minuten bei $+4^{\circ}\text{C}$ mit Glasperlen geschüttelt, das Medium 5 Minuten bei 3000 Umdr. zentrifugiert und der Überstand in Portionen zu 4,0 ml bei -20°C eingefroren = 92. ENK-KP. Zur Kontrolle einer Virusvermehrung in der Kultur wurde der Überstand in der Hämagglutination austitriert. Der Hämagglutinationstiter betrug 1 : 512. Zur Impfstoffherstellung wurden am 5.3.1962 sechs Roux-Schalen und zwei Penicillin-Flaschen mit der 92. ENK-KP beimpft. Die Impfdosis betrug pro Roux-Schale 2,0 ml, pro Pen.-Flasche 5,0 ml. Am 3. Tag p. i. wurde in derselben Weise, wie oben beschrieben, die virushaltige Kulturflüssigkeit gewonnen, in Erlenmeyerkolben zu je 100 ml abgefüllt und bei -20°C eingefroren = 93. ENK-KP.

Dieser erste Impfstoffvorrat erhielt die Bezeichnung — Charge I —. Da für die Dauer des Versuches eine große Menge Impfstoff benötigt wurde, verwendeten wir vom 12.6.62 an die 93. ENK-KP als weiteres Ausgangsmaterial für die Produktion des Impfstoffes.

Daten der Impfstoffherstellung

Charge I	8. 3. 62	{ 6 Roux-Sch. = 540 ml, 2 Pen.-Fl. = 500 ml, }	93. ENK-KP, HA = 1 : 512
Charge II	22. 3. 62	{ 2 Roux-Sch. = 180 ml, 1 Pen.-Fl. = 250 ml, }	93. ENK-KP, HA = 1 : 512
Charge III	5. 4. 62	3 Pen.-Fl. = 750 ml,	93. ENK-KP, HA = 1 : 512
Charge VI	15. 6. 62	4 Roux-Sch. = 360 ml,	94. ENK-KP, HA = 1 : 256
Charge VII	23. 6. 62	5 Roux-Sch. = 450 ml,	94. ENK-KP, HA = 1 : 256
Charge VIII	29. 6. 62	9 Roux-Sch. = 810 ml,	94. ENK-KP, HA = 1 : 128
Charge IX	19. 8. 62	2 Roux-Sch. = 180 ml,	94. ENK-KP, HA = 1 : 256

Die Chargen IV und V erwiesen sich als unsteril und wurden verworfen.

4.) Prüfung des Impfstoffes

Vor der Anwendung wurde jede Impfstoffcharge auf Keimfreiheit untersucht. Für den Nachweis von Bakterien dienten: Blutplatte, 10% Pferdeserumbouillon, Leberbouillon, einfacher Agar und Verdauungsbouillon. Verunreinigungen durch Pilze wurden mit Hilfe des Bierwurz-Agar festgestellt. Um sicherzugehen, daß der Impfstoff frei vom Virus der Maul- und Klauenseuche war, wurden am 28. 3. 1962 vierzehn Säuglingsmäuse intraperitoneal mit je 0,1 ml Impfstoff Charge I infiziert. Da sich jedoch kein Befund ergab, wurden die Mäuse 7 Tage p. i. getötet.

5. Hämagglutination und Hämagglutinations-Hemmungstest

Zur Titration des Hämagglutinins wurde eine in 2-er Potenzen steigende Virusverdünnungsreihe hergestellt. Als Verdünnungsflüssigkeit diente physiologische Kochsalzlösung (0,85%ig). Den Verdünnungen wurde jeweils die gleiche Menge (0,3 ml) einer frischen 0,5%igen Aufschwemmung von Meerschweinchenerythrozyten zugesetzt. Die Ablesung erfolgte nach einer Inkubation von 30 Minuten bei 37°C im Wasserbad und 60 Minuten bei Zimmertemperatur. Als Endtiter galt diejenige Virusverdünnung, bei der noch eine deutliche Agglutination zu beobachten war.

Der HAH-Test wurde nach der Methode von Mayr (56) durchgeführt. Vor Versuchsbeginn wurden die Seren 30 Minuten bei 56°C inaktiviert. Zur Verhinderung einer Isoagglutination erfolgte die Adsorption der Seren an die für den Test verwendete Charge Meerschweinchenerythrozyten. Dazu wurde das 1:1,5 verdünnte Serum mit 0,5 ml der 10%igen Erythrozytensuspension gemischt und 1 Stunde im Wasserbad bei 37°C gehalten. Nach dem Abzentrifugieren der Erythrozyten wurde mit der überstehenden Serumverdünnung von 1:2 eine Verdünnungsreihe hergestellt, die in 2-er Potenzen von 1:4 bis 1:1024 anstieg. Als Verdünnungsflüssigkeit diente eine 0,5%ige Aufschwemmung von Meerschweinchenerythrozyten in physiologischer NaCl-Lösung (0,85%ig). In das 1. Röhrchen jeder Reihe kam 0,3 ml einer 1%igen Erythrozytensuspension, damit nach der Herstellung der Verdünnungsreihe in allen Röhrchen gleichviel Erythrozyten waren. Zu jeder Serumverdünnungsstufe wurde eine gleiche Menge Antigen zugegeben (0,3 ml). Wir arbeiteten mit 4 vollagglutinierenden Einheiten. Nach gutem Durchschütteln wurden die Röhrchen 1 Stunde im Wasserbad bei 37°C bebrütet und danach eine Stunde bei Zimmertemperatur belassen.

Der Serumtitер entsprach der Verdünnung, bei der noch eine einwandfreie Hemmung der Agglutination zu beobachten war.

Als Kontrolle lief bei jedem Versuchsansatz neben der Antigen-, Serum- und NaCl-Kontrolle ein negatives und positives Serum mit.

6.) Versuchstiere

Zur Durchführung der Impfversuche wurden von der Bayerischen Landesanstalt für Tierzucht in Grub Jungkälber zur Verfügung gestellt. Die Tiere, die für die Nachkommenprüfung auf Fleischleistung bestimmt waren, stammten aus den verschiedensten Gegenden Bayerns. Sie wurden in einem geschlossenen Kälberanbindestall mit einem Fassungsvermögen für 75 Tiere in Gruppen von 12 oder 13 Tieren aufgestellt. Durch das dauernde Hinzukommen neuer Tiere war die Aufenthaltsdauer im Kälberstall in der Regel auf 8 Wochen beschränkt. Anschließend kamen die Tiere in einen größeren Anbindestall im selben Betrieb oder in ein Filialversuchsgut.

Insgesamt wurden 265 Kälber (72% Höhenfleckvieh-, 16% Gelbe Franken- und 12% Braunviehkälber) in die Versuche einbezogen.

Vor Beginn der Vakzinierungsversuche klagte der Betrieb über das häufige Auftreten respiratorischer Erkrankungen. In den meisten Fällen wurde verstärkte Nasensekretion und häufig Husten beobachtet. Schwere Erkrankungen und Verluste waren selten. Offensichtlich führten diese leichten respiratorischen Erscheinungen jedoch zu Verzögerungen in der Gewichtszunahme der Kälber.

Das Alter der Tiere schwankte bei der 1. Impfung von 3–21 Wochen und betrug im Durchschnitt 6 Wochen.

7.) Impftechnik

Die Impfungen erfolgten mit einer 30 ccm-Rotlaufspritze. Für die intranasale (i. n.) Impfung, die im Anschluß an die intramuskuläre (i. m.) Impfung stattfand, eignete sich eine stumpf geschliffene 23er-Kanüle, die auf den Gummischlauch der Spritze aufgesetzt wurde. Der Impfstoff wurde in feinem Strahl in die beiden Nasenöffnungen gebracht, wobei eine Hilfsperson den Kopf des Tieres fixierte.

Während der gesamten Versuchsperiode vom 1. 4. 62–4. 1. 63 wurden in Grub 265 Mastkälber gegen die Parainfluenza-3-Infektion vakziniert.

Die Applikation des Lebendimpfstoffes erfolgte bei 178 Tieren i. n. (2,0 ml) und i. m. (5,0 ml), und bei 87 Tieren nur i. m. (5,0 ml).

Bei der ersten Behandlung des Bestandes wurden alle in dem Versuchsstall untergebrachten Kälber am selben Tag geimpft. Neuankommende Kälber konnten größtenteils 1–2 Tage nach der Aufstallung vakziniert werden.

Nach Erreichen eines Alters von 3–5 Monaten wurden 151 Kälber einer 2. Impfung unterzogen. Diesmal wurde der Impfstoff ausschließlich i. m. (5,0 ml) injiziert.

42 Kälber, die vom 1. 11. 1962–1. 12. 1962 nach Grub kamen, konnten aus technischen Gründen erst 4–7 Wochen nach der Aufstallung geimpft werden. Neben der Impfung wurde eine Gesundheitskontrolle durchgeführt, bei der insbesondere auf Symptome des Respirationstraktes, auf Augenausfluß und Durchfall geachtet wurde.

8.) Entnahme von Nasenschleim- und Blutproben

Bei Tieren, die intranasal geimpft wurden, erfolgte 4 Tage post vaccinationem (p. vacc.) die Gewinnung von Nasenschleimproben. Für die Entnahme wurden sterile Wattetupfer verwendet, die in sterilen Reagenzröhrchen aufbewahrt wurden. Die Röhrchen enthielten für die Aufnahme des Materials 4,0 ml Medium (90% Earle, 10% Laktalbumin einer 5%igen Lösung und Antibiotika). Mit den feuchten Wattetupfern wurde die Nasenschleimhaut gründlich abgestrichen. Dann wurden die Tupfer in die Röhrchen zurückgebracht und in dem Medium ausgeschwenkt. Die Proben wurden in einem Eisbad transportiert, und im Institut bis zur Verarbeitung bei + 4°C gelagert.

Die erste Blutprobe wurde von allen Tieren vor der 1. Vakzinierung gewonnen. 14 Tage p. vacc. erfolgte die zweite Blutentnahme. Von Kälbern, bei denen eine 2. Impfung stattfand, wurden vor der 2. Vakzinierung und 14 Tage danach erneut Blutproben entnommen.

Am 9. 10. 1962 und am 23. 10. 1962 wurden außerdem 99 Blutproben von Schlachtkälbern aus dem Münchener Schlachthof gebracht.

Die Blutproben wurden nach der Gewinnung zu Serum verarbeitet, und bis zur Prüfung bei – 20°C gelagert. Zur Untersuchung auf hämagglutinationshemmende Antikörper gegen das Parainfluenza-3-Virus gelangten nur sterile Seren.

9.) Virusreisolierung

Die Flüssigkeit der Nasentupferproben wurde auf Kälbernieren-Zellkulturen gegeben. Pro Probe impften wir 5 Reagenzglaskulturen mit je 0,1 ml, zwei mit serumfreiem Medium (88% Earle, 10% Laktalbumin einer 5%igen Lösung, Antibiotika), drei mit 5%igem Pferdeserum enthaltendem Medium. Dem Medium wurden jeweils 100 E. Moronal/ml beigegeben. Nach 5-tägiger Bebrütung bei 37° C wurden die Kulturen kurzfristig bei – 20° C eingefroren und dann in die 2. Kulturpassage gebracht. Nach weiteren 5 Tagen Bebrütung wurden alle Kulturen der 2. Kulturpassage, auch solche mit beginnendem zytopathogenen Effekt, im Hämadsorptionstest geprüft. Hierzu gaben wir pro Röhrchen 0,4 ml einer 0,4%igen Suspension von Meerschweinchen-Erythrozyten. Die Kulturen kamen anschließend für 15 Minuten in den Kühlschrank und wurden dann mikroskopisch ausgewertet.

II. Ergebnisse

1.) Untersuchungen über das natürliche Vorkommen von hämagglutinationshemmenden Antikörpern gegen das Myxovirus Parainfluenzae-3 im Serum von Jungkälbern

Um Aufschluß über das Vorkommen hämagglutinationshemmender Antikörper bei Jungrindern gegenüber dem Myxovirus Parainfluenzae-3 zu bekommen, wurden insgesamt 364 Kälberseren im HAH-Test untersucht. 265 Seren stammten von Kälbern im Alter von 3–21 Wochen eines Versuchsbetriebes, 99 von Schlachtkälbern des Schlachthofes München.

Bei der Beurteilung der Spezifität der HAH-Reaktion wurde ein Serumtiter von 1 : 16 und höher als positiv angesehen, Titer von 1 : 8 und kleiner galten als negativ.

Von 364 Jungkälbern hatten 326 (90%) positive und 38 (10%) negative Serumtiter gegenüber dem Virus der Parainfluenza-3. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 1 zusammengefaßt.

Bei den Versuchstieren bewegten sich die HAH-Titer in der Regel zwischen 1 : 16 und 1 : 256. Unterteilt man diese Tiere in 3 Altersgruppen, so fällt auf, daß in den Gruppen der 3–6 bzw. der 7–14 Wochen alten Tiere mehr hohe Titer zu finden waren als in der Gruppe der 15–21 Wochen alten Kälber und der Schlachtkälber. Die letzteren wiesen in der Mehrzahl einen Hemmungstiter zwischen 1 : 16 – 1 : 128 auf. Von 99 untersuchten Kälberseren dieser Gruppe hatten 18 Seren einen Titer von 1 : 8 oder kleiner als 1 : 8.

Der Anteil negativer Reagenten war unter den Schlachthofkälbern mithin größer als bei den Versuchstieren.

Tabelle 1: Ergebnisse der Untersuchungen von Kälberseren im Häm-agglutinationshemmungstest gegen das Virus der Parainfluenza-3

Tiergruppe	Alter	Seren	<8-8	16-32	64-128	256-512*
Versuchstiere	3-6 W	137	12 (9%)	35 (25%)	71 (52%)	19 (14%)
	7-14 W	106	6 (6%)	39 (37%)	47 (44%)	14 (13%)
	15-21 W	22	2 (9%)	13 (59%)	7 (32%)	0 (0%)
Schlachthofkälber		99	18 (18%)	42 (43%)	32 (32%)	7 (7%)
zusammen		364	38 (10%)	129 (36%)	157 (43%)	40 (11%)

* reziproke Zahlen

2.) Allgemeines zur Impfung

Nach Möglichkeit wurden alle Kälber unmittelbar bei der Ankunft in dem Versuchsbetrieb geimpft. Eine Ausnahme stellten diejenigen Tiere dar, die bereits bei Beginn der Untersuchungen über eine längere Zeitdauer dort verweilten. In der Tabelle 2 ist die Anzahl und das Alter der Impflinge aufgeführt. Insgesamt standen uns 265 Kälber zur Verfügung. Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, schwankte das Alter der Tiere bei der 1. Impfung zwischen 3-21 Wochen und betrug im Durchschnitt 6 Wochen.

Tabelle 2: Altersgruppierung der Kälber vor der 1. Impfung

Alter	3W	4W	5W	6W	7W	8W	9W	10W	11W	12W
Zahl	13	36	45	43	21	27	17	7	6	16
	137 (52%)				106 (40%)					

Alter	13W	14W	15W	16W	17W	18W	19W	20W	21W
Zahl	7	5	2	4	0	2	4	5	5
	22 (8%)								

3. Serologische Ergebnisse nach der 1. Impfung

178 Kälber wurden gleichzeitig intranasal und intramuskulär, 87 Kälber nur intramuskulär geimpft.

Von 265 Kälbern (261 Seren) zeigten 49 (19%) zwei Wochen nach der 1. Impfung einen signifikanten Anstieg hämagglutinationshemmender Antikörper. Die Tabelle 3 bringt die genaue Aufschlüsselung der Serumtiter vor und nach der 1. Impfung bei den verschiedenen Altersgruppen. 3–6 Wochen alte Tiere zeigten im Anschluß an die Impfung nur vereinzelt signifikante Titeranstiege, während bei den 7–14 Wochen alten Kälbern ein Anstieg der Serumantikörper bereits in 21% der untersuchten Fälle zu beobachten war. Ältere Tiere (15–21 Wochen) hatten vor der Impfung im Vergleich zu den jüngeren Tieren niedrige Ausgangstiters, die 14 Tage p. vacc. bei 59% der Kälber signifikant angestiegen waren. Tiere, deren Hämagglutinationshemmungstiter vor der Impfung 1 : 4 – 1 : 8 betrug, zeigten in der Regel nach der Impfung einen signifikanten Anstieg.

Bei 20 Kälbern kam es im Anschluß an die Vakzinierung nur zu einem Titeranstieg um eine Zweierpotenz, bei 128 Tieren (49%) blieb der HAH-Titer sogar auf gleicher Höhe. 64 Tiere reagierten auf die Impfung mit einem Absinken des Serumtiters um eine 2-er Potenz.

Tabelle 3: Ergebnisse der Untersuchungen von Serumpaaren vor und 14 Tage nach der 1. Impfung im Hämagglutinationshemmungstest gegen das Virus der Parainfluenza-3

Tiere	Seren	<8–8	16–32	64–128	256–512	> 512*	Sign. HAH- Anstiege
3–6 W	v. 1. l.	137	12 (9%)	35 (25%)	71 (52%)	19 (14%)	—0—
	14 T. p. v.	136	1	41 (30%)	76 (56%)	18 (13%)	—0— 14 (10%)
7–14 W	v. 1. l.	106	6 (6%)	39 (37%)	47 (44%)	14 (13%)	—0—
	14 T. p. v.	103	—0—	30 (29%)	59 (57%)	12 (12%)	2 (2%) 22 (21%)
15–21 W	v. 1. l.	22	2 (9%)	13 (59%)	7 (32%)	—0—	—0—
	14 T. p. v.	22	—0—	5 (23%)	8 (36%)	6 (27%)	3 (14%) 13 (59%)
zusammen	v. 1. l.	265	20 (8%)	87 (33%)	125 (47%)	33 (12%)	—0—
	14 T. p. v.	261	1	76 (29%)	143 (55%)	36 (14%)	5 (2%) 49 (19%)

* reziproke Zahlen

Von 187 Kälbern wurden 2–3 Monate nach der 1. Impfung weitere Blutproben entnommen und die Seren wiederum im HAH-Test ausgewertet. In der Tabelle 4 werden die HAH-Titer 14 Tage p. vacc. mit denen 2–3 Monate p. vacc. verglichen.

Bei Tieren, die im Anschluß an die Impfung einen Titeranstieg auf 1 : 128 bis 1 : 256 aufwiesen, war in der Regel ein Titerabfall um 1–2 Zweierpotenzen zu beobachten. Die Serumtitern von Kälbern, die nach der 1. Impfung gegenüber dem Ausgangswert nicht angestiegen waren, blieben 2–3 Monate p. vacc. gleich (20 %) oder waren um eine bis zwei 2-er Potenzen abgesunken (66 %), häufig sogar bis zu Werten auf 1 : 4–1 : 8.

In diesem Zeitraum war bei 13 Tieren ein signifikanter Anstieg der Serumantikörper gegenüber dem PI-3-Virus zu beobachten. Allein während der Zeitspanne vom 1. November 1962 bis zum 20. Dezember 1962 waren die Serumtitern bei 10 Tieren gegenüber den Ergebnissen nach der 1. Impfung deutlich angestiegen. Bei einer wesentlich größeren Population während der Monate April bis November konnte dagegen nur bei 3 Tieren eine Erhöhung des Hemmungstiters festgestellt werden.

Tabelle 4: Vergleich zwischen den Hämagglutinationshemmungstitern 14 Tage und 2–3 Monate post vaccinationem

	Seren	<8–8	16–32	64–128	256–512	1024*
14 T. p. 1. v.	261	1	76 (29 %)	143 (55 %)	36 (14 %)	5 (2 %)
2–3 M. p. 1. v.	187	14 (7 %)	94 (50 %)	61 (33 %)	18 (10 %)	—0—

* reziproke Zahlen

4.) Serologische Ergebnisse nach der 2. Impfung

151 Kälber wurden 2–3 Monate nach der 1. Vakzination zum zweiten Male geimpft.

Die Impfung erfolgte dieses Mal nur intramuskulär.

Die Ergebnisse der serologischen Untersuchungen sind in der Tabelle 5 wiedergegeben. Auf die 2. Impfung mit der Lebendvakzine reagierten von 151 Tieren 69 (46 %) Kälber mit einem signifikanten Antikörperanstieg. Außerdem hatten 20 (13 %) Tiere einen Anstieg um eine Zweierpotenz. 48 (32 %)

Tiere hielten dieselbe Titerhöhe und bei 14 Tieren (9%) sank der Titer um eine Zweierpotenz ab. Hier handelte es sich um solche Tiere, die auf die 1. Impfung ebenfalls keine Reaktion gezeigt hatten.

Über die Verweildauer der HAH-Serumantikörper nach der 2. Impfung kann nichts ausgesagt werden, da von diesen Tieren später keine Blutproben mehr entnommen wurden.

Tabelle 5: Ergebnisse der Untersuchungen von Serumpaaren vor und 14 Tage nach der 2. Impfung im Hämagglutinationshemmungstest gegen das Virus der Parainfluenza-3

Tiere	Seren	<8—8	16—32	64—128	256—512	> 512*	Sign. HAH- Anstiege
ün.	17 W v. 2. I.	97	10 (10%)	55 (57%)	29 (30%)	3 (3%)	—0—
	14 T. p. v.	97	—0—	41 (42%)	32 (33%)	21 (22%)	3 (3%) 42 (43%)
ält.	17 W v. 2. I.	54	1 (2%)	31 (57%)	16 (30%)	6 (11%)	—0—
	14 T. p. v.	54	—0—	7 (13%)	26 (48%)	20 (37%)	1 (2%) 27 (50%)
zusammen	v. 2. I.	151	11 (7%)	86 (57%)	45 (30%)	9 (6%)	—0—
	14 T. p. v.	151		48 (32%)	58 (38%)	41 (27%)	4 (3%) 69 (46%)

* reziproke Zahlen

5. Ergebnisse der Virusreisolierung aus dem Nasenschleim nach der 1. Impfung

Von 153 gleichzeitig intranasal und intramuskulär geimpften Kälbern wurde jeweils am 4. Tag p. vacc. eine Nasenschleimprobe entnommen und das Material auf primäre Kälbernierenzellkulturen verimpft. 44 Nasenproben erwiesen sich als unsteril und wurden verworfen. Die Gewebekulturen wurden nach 5-tägiger stationärer Bebrütung bei 37°C kurzfristig bei – 20°C eingefroren. Nach dem Auftauen wurde das Material in eine 2. Gewebekulturpassage gebracht.

Sowohl in der 1., als auch in der 2. Kulturpassage traten nur vereinzelt spezifische Zellveränderungen in Form von einzelnen Zellabkugelungen auf. Die Diagnose wurde deshalb in jedem Falle mit Hilfe des Hämadsorptionstestes (0,4% Meerschweinchenerythrozyten) gestellt.

Aus 109 Nasenschleimproben konnten 65 (60%) Virusstämme der Parainfluenza-3 isoliert werden, während 44 (40%) negativ waren.

6.) Zusammenfassende Übersicht über das serologische Verhalten der einzelnen Tiere nach der 1. und 2. Vakzinierung mit einem Lebendimpfstoff gegen das Virus der Parainfluenza-3, sowie Ergebnisse der Virusreisolierung aus dem Nasenschleim.

Die Vakzinierungsversuche haben gezeigt, daß zahlreiche individuelle Schwankungen im serologischen Verhalten der Tiere im Anschluß an die Impfungen vorhanden waren. Es wird deshalb in der Tabelle 6 ein zusammenfassender Überblick über die durchgeführten Untersuchungen mit Zeitpunkt der Aufstallung = Zeitpunkt der 1. Impfung, Altersangabe der Versuchstiere, HAH-Titer vor und 14 Tage nach der 1. Impfung, Zeitpunkt einer 3. Blutprobe, gegebenenfalls Zeitpunkt der 2. Impfung und HAH-Titer vor und 14 Tage nach der 2. Impfung gegeben.

abelle 6: Übersicht über die Einzelergebnisse der durchgeführten Untersuchungen bei Kälbern vor und nach der Impfung mit einem Parainfluenza-3-Lebendimpfstoff

Tier Nr.	Aufstallung Impfung Monat	1. Impfung				2. Impfung			
		Alter des Tieres	HAH-Titer vor d. Impfg.	HAH-Titer 14 Tg. n. d. I.	Nasenschl.-Probe	Monat	Alter des Tieres	HAH-Titer v.d. Impfg.	HAH-Titer 14 Tg. n. d. I.
1	März/April	6 W	1 : 32	1 : 32		Juli	20 W	1 : 16	1 : 512
2	März/April	8 W	1 : 32	1 : 32	+	Juli	21 W	1 : 16	1 : 256
3	März/April	8 W	1 : 64	1 : 64		Juli	21 W	1 : 32	1 : 32
4	März/April	8 W	1 : 128	1 : 128		Juli	21 W	1 : 64	1 : 64
5	März/April	8 W	1 : 32	1 : 32	+	Juli	21 W	1 : 16	1 : 256
6	März/April	8 W	1 : 32	1 : 32		Juli	21 W	1 : 16	1 : 128
7	März/April	8 W	1 : 32	1 : 32		Juli	21 W	1 : 16	1 : 64
8	März/April	8 W	1 : 32	1 : 32		Juli	21 W	1 : 32	1 : 512
9	März/April	7 W	1 : 16	1 : 16		Juli	20 W	1 : 32	1 : 128
10	März/April	8 W	1 : 16	1 : 16		Juli	21 W	1 : 32	1 : 512
11	März/April	9 W	1 : 32	1 : 32		Juli	22 W	1 : 32	1 : 1024
12	März/April	6 W	1 : 64	1 : 64	—	Juli	19 W	1 : 32	1 : 128
13	Jan./April	20 W	1 : 32	1 : 256		Juni	28 W	1 : 64	
14	Jan./April	13 W	1 : 16	1 : 128	+	Juni	21 W	1 : 256	
15	Jan./April	12 W	1 : 64	1 : 128	+	Juni	20 W	1 : 64	
16	Jan./April	12 W	1 : 32	1 : 128		Juni	20 W	1 : 64	
17	Jan./April	12 W	1 : 256	1 : 256					
18	Jan./April	13 W	1 : 32	1 : 64					
19	Jan./April	12 W	1 : 64	1 : 512		Juni	20 W	1 : 512	
20	Jan./April	14 W	1 : 128	1 : 512		Juni	22 W	1 : 512	
21	Jan./April	13 W	1 : 64	1 : 512		Juni	21 W	1 : 512	
22	Jan./April	15 W	1 : 32	1 : 64		Juni	23 W	1 : 64	
23	Jan./April	13 W	1 : 512	1 : 512		Juni	21 W	1 : 512	
24	Jan./April	13 W	1 : 32	1 : 256		Juni	21 W	1 : 128	
26	Dez./April	19 W	1 : 16	1 : 256	+	Juni	27 W	1 : 128	
27	Dez./April	19 W	1 : 16	1 : 32	—	Juni	27 W	1 : 32	
28	Dez./April	19 W	1 : 16	1 : 1024					

Tier Nr.	Aufstallung Impfung Monat	1. Impfung				2. Impfung			
		Alter des Tieres	HAH- Titer vor d. Impfg.	HAH- Titer 14 Tg. n. d. I.	Nasen- schl.- Probe	Monat	Alter des Tieres	HAH- Titer v.d. Impfg.	HAH- Titer 14 Tg. n. d. I.
29	Dez./April	19 W	1 : 16	1 : 64		Juni	27 W	1 : 64	
30	Dez./April	20 W	1 : 8	1 : 256		Juni	28 W	1 : 128	
31	Dez./April	20 W	1 : 16	1 : 16		Juni	28 W	1 : 32	
32	Dez./April	20 W	1 : 16	1 : 64		Juni	28 W	1 : 32	
33	Dez./April	21 W	1 : 16	1 : 128		Juni	29 W	1 : 64	
34	Dez./April	21 W	1 : 16	1 : 16					
35	Dez./April	21 W	1 : 16	1 : 256		Juni	29 W	1 : 64	
36	Dez./April	21 W	1 : 128	1 : 1024		Juni	29 W	1 : 512	
37	Dez./April	20 W	1 : 32	1 : 1024		Juni	28 W	1 : 512	
38	Dez./April	21 W	1 : 8	1 : 64		Juni	29 W	1 : 64	
39	Febr./April	14 W	1 : 16	1 : 1024		Juni	22 W	1 : 512	
40	Febr./April	14 W	1 : 32	1 : 64					
41	Febr./April	13 W	1 : 32	1 : 64					
42	Febr./April	12 W	1 : 64	1 : 64					
43	Febr./April	12 W	1 : 16	1 : 16	—				
44	Febr./April	12 W	1 : 16	1 : 64	+	Juni	20 W	1 : 64	
45	Febr./April	12 W	1 : 16	1 : 512		Juni	20 W	1 : 512	
46	Febr./April	12 W	1 : 16	1 : 16					
47	Febr./April	12 W	1 : 128	1 : 64					
48	Febr./April	12 W	1 : 128	1 : 128					
49	Febr./April	10 W	1 : 128	1 : 128					
50	Febr./April	7 W	1 : 256	1 : 128					
52	März/April	6 W	1 : 64	1 : 128	+				
53	März/April	5 W	1 : 64	1 : 64					
54	März/April	6 W	1 : 64	1 : 64					
55	März/April	5 W	1 : 128	1 : 128					
56	März/April	10 W	1 : 16	1 : 16	—				
57	März/April	9 W	1 : 32	1 : 32					
58	März/April	6 W	1 : 32	1 : 64					
59	April	4 W	1 : 128	1 : 128	—				
60	April	3 W	1 : 64	1 : 64	—	Juli	17 W	1 : 32	1 : 512

Tier Nr.	Aufstallung Impfung Monat	1. Impfung				2. Impfung			
		Alter des Tieres	HAH- Titer vor d. Impfg.	HAH- Titer 14 Tg. n. d. I.	Nasen- schl.- Probe	Monat	Alter des Tieres	HAH- Titer v.d. Impfg.	HAH- Titer 14 Tg. n. d. I.
61	April	4 W	1 : 32	1 : 32	—				
62	April	4 W	1 : 64	1 : 64	+				
63	April	3 W	1 : 32	1 : 64	+				
64	Mai	9 W	1 : 16	1 : 32	—	Juli	19 W	1 : 16	1 : 512
65	Mai	7 W	1 : 64	1 : 64	+	Juli	17 W	1 : 64	1 : 256
66	Mai	9 W	1 : 64	1 : 64	+	Juli	19 W	1 : 32	1 : 128
67	Mai	6 W	1 : 32	1 : 64	—	Juli	16 W	1 : 256	1 : 512
68	Mai	7 W	1 : 64	1 : 64	—	Juli	17 W	1 : 32	1 : 128
69	Mai	5 W	1 : 64	1 : 64	—	Juli	15 W	1 : 16	1 : 64
70	Mai	8 W	1 : 64	1 : 32	—	Juli	18 W	1 : 16	1 : 128
71	Mai	8 W	1 : 64	1 : 64	—	Juli	18 W	1 : 32	1 : 64
72	Mai	6 W	1 : 8	1 : 16	—	Juli	16 W	1 : 64	1 : 256
73	Mai	8 W	1 : 32	1 : 32	+	Juli	18 W	1 : 32	1 : 128
74	Mai	6 W	1 : 64	1 : 64	+	Juli	15 W	1 : 64	1 : 256
75	Mai	5 W	1 : 128	1 : 64	+	Juli	15 W	1 : 64	1 : 64
76	Mai	9 W	1 : 16	1 : 32	+	Juli	17 W	1 : 32	1 : 512
77	Mai	6 W	1 : 16	1 : 64	—	Juli	14 W	1 : 64	1 : 512
78	Mai	9 W	1 : 128	1 : 64	+	Juli	17 W	1 : 64	1 : 64
79	Mai	6 W	1 : 4	1 : 128	—	Juli	14 W	1 : 256	1 : 1024
80	Mai	6 W	1 : 256	1 : 256	+	Juli	14 W	1 : 64	1 : 64
81	Mai	6 W	1 : 32	1 : 32	+	Juli	14 W	1 : 8	
82	Mai	6 W	1 : 256	1 : 128	—	Juli	14 W	1 : 64	1 : 256
83	Mai	5 W	1 : 32	1 : 32	+	Juli	13 W	1 : 16	1 : 256
84	Mai	6 W	1 : 256	1 : 256	+	Juli	14 W	1 : 128	1 : 128
85	Mai	5 W	1 : 8	1 : 32	—	Juli	13 W	1 : 64	1 : 64
86	Mai	5 W	1 : 64	1 : 64	+	Juli	13 W	1 : 32	1 : 16
87	Mai	6 W	1 : 128	1 : 64	+	Juli	14 W	1 : 64	1 : 32
88	Mai	7 W	1 : 32	1 : 32	—	Juli	16 W	1 : 16	1 : 64
89	Mai	8 W	1 : 256	1 : 128	+	Juli	17 W	1 : 64	1 : 64
90	Mai	3 W	1 : 64	1 : 64	—				
91	Juni	6 W	1 : 32	1 : 32	—	Juli	14 W	1 : 32	

Tier Nr.	Aufstallung Impfung Monat	1. Impfung				2. Impfung			
		Alter des Tieres	HAH- Titer vor d. Impfg.	HAH- Titer 14 Tg. n. d. I.	Nasen- schl.- Probe	Monat	Alter des Tieres	HAH- Titer v.d. Impfg.	HAH- Titer 14 Tg. n. d. I.
92	Juni	3 W	1 : 256	1 : 256	+	Juli	12 W	1 : 64	1 : 64
93	Juni	4 W	1 : 16	1 : 16	+	Juli	12 W	1 : 8	1 : 256
94	Juni	5 W	1 : 64	1 : 64	+	Juli	13 W	1 : 32	1 : 32
95	Juni	6 W	1 : 32	1 : 32	—	Juli	14 W	1 : 16	1 : 64
96	Juni	3 W	1 : 32	1 : 32	+	Juli	11 W	1 : 16	1 : 32
97	Juni	3 W	1 : 32	1 : 32	+	August	16 W	1 : 32	1 : 256
98	Juni	4 W	1 : 64	1 : 64	+	August	17 W	1 : 32	1 : 16
99	Juni	3 W	1 : 64		+				
100	Juni	6 W	1 : 64	1 : 32	+	Juli	14 W	1 : 32	1 : 16
101	Juni	3 W	1 : 128	1 : 128	+	Juli	11 W	1 : 32	1 : 32
102	Juni	4 W	1 : 64	1 : 64	—	Juli	12 W	1 : 32	1 : 32
103	Juni	5 W	1 : 8	1 : 16	+	August	14 W	1 : 16	1 : 256
104	Juni	6 W	1 : 128	1 : 64	+	August	15 W	1 : 32	1 : 32
105	Juni	8 W	1 : 64	1 : 32	—	August	17 W	1 : 8	
106	Juni	8 W	1 : 16	1 : 64	+				
107	Juni	4 W	1 : 64	1 : 64	+	August	15 W	1 : 8	
108	Juni	9 W	1 : 8	1 : 64	+	August	18 W	1 : 16	
109	Juni	7 W	1 : 8	1 : 128	+	August	16 W	1 : 64	1 : 256
110	Juni	4 W	1 : 128	1 : 64	+	August	13 W	1 : 32	1 : 16
111	Juni	7 W	1 : 32	1 : 16	+	August	16 W	1 : 8	1 : 16
112	Juni	7 W	1 : 256	1 : 128	+	August	18 W	1 : 32	1 : 16
113	Juni	8 W	1 : 64	1 : 64	—	August	19 W	1 : 16	1 : 16
114	Juni	5 W	1 : 32	1 : 256	—	August	16 W	1 : 256	1 : 512
115	Juni	8 W	1 : 128	1 : 64	+	August	19 W	1 : 16	1 : 32
116	Juni	5 W	1 : 256	1 : 256	+	August	16 W	1 : 64	1 : 32
117	Juni	6 W	1 : 64	1 : 64	+	August	17 W	1 : 32	1 : 16
118	Juni	5 W	1 : 64	1 : 32	+	August	16 W	1 : 8	1 : 16
119	Juni	4 W	1 : 128	1 : 256		August	11 W	1 : 16	1 : 16
120	Juni	4 W	1 : 64	1 : 64	—	August	11 W	1 : 16	1 : 256
121	Juni	5 W	1 : 256	1 : 256		August	12 W	1 : 64	1 : 32
122	Juni	4 W	1 : 64	1 : 64	+	August	15 W	1 : 16	1 : 512

Tier Nr.	Aufstallung Impfung Monat	1. Impfung				2. Impfung			
		Alter des Tieres	HAH- Titer vor d. Impfg.	HAH- Titer 14 Tg. n. d. l.	Nasen- schl.- Probe	Monat	Alter des Tieres	HAH- Titer v.d. Impfg.	HAH- Titer 14 Tg. n. d. l.
123	Juni	4 W	1 : 4	1 : 128	—	August	15 W	1 : 64	1 : 256
124	Juni	3 W	1 : 32	1 : 32	+	August	14 W	1 : 8	1 : 64
125	Juni	5 W	1 : 64	1 : 64	—	August	16 W	1 : 64	1 : 512
126	Juni	6 W	1 : 128	1 : 128	—	August	17 W	1 : 16	1 : 64
127	Juni	6 W	1 : 128	1 : 256	—	August	17 W	1 : 256	1 : 512
128	Juni	5 W	1 : 128	1 : 128	—	August	16 W	1 : 64	1 : 1024
129	Juni	6 W	1 : 256	1 : 256		August	17 W	1 : 32	1 : 32
130	Juni	4 W	1 : 8	1 : 128		August	15 W	1 : 16	1 : 16
131	Juni	13 W	1 : 64	1 : 64		August	22 W	1 : 32	1 : 256
132	Juni	7 W	1 : 128	1 : 64		August	15 W	1 : 32	1 : 32
133	Juni	8 W	1 : 64	1 : 64		August	16 W	1 : 8	1 : 64
134	Juni	6 W	1 : 128	1 : 128		August	14 W	1 : 32	1 : 32
135	Juni	7 W	1 : 128	1 : 128		August	15 W	1 : 32	1 : 32
136	Juni	7 W	1 : 64	1 : 64		August	15 W	1 : 16	1 : 256
137	Juni	6 W	1 : 256	1 : 128		August	14 W	1 : 64	1 : 32
138	Juni	8 W	1 : 64	1 : 64		August	16 W	1 : 32	1 : 32
139	Juni	5 W	1 : 256	1 : 256		August	13 W	1 : 64	1 : 64
140	Juni	5 W	1 : 128	1 : 128		August	13 W	1 : 32	1 : 32
141	Juni	6 W	1 : 128	1 : 128		August	14 W	1 : 32	1 : 32
142	Juni	4 W	1 : 64	1 : 64		August	12 W	1 : 16	1 : 16
143	Juni	4 W	1 : 64	1 : 64		August	12 W	1 : 16	1 : 64
144	Juni	5 W	1 : 32	1 : 16		August	14 W	1 : 16	1 : 512
145	Juni	11 W	1 : 128	1 : 128		August	20 W	1 : 32	1 : 32
146	Juni	5 W	1 : 128	1 : 64		August	14 W	1 : 16	1 : 32
147	Juli	6 W	1 : 4	1 : 128	+	August	13 W	1 : 64	1 : 1024
148	Juli	6 W	1 : 16	1 : 16	—	August	13 W	1 : 16	1 : 256
149	Juli	5 W	1 : 128	1 : 128	—	September	13 W	1 : 64	1 : 64
150	Juli	6 W	1 : 128	1 : 64	+	September	14 W	1 : 32	1 : 32
151	Juli	6 W	1 : 64	1 : 32	+	September	14 W	1 : 16	1 : 16
152	Juli	6 W	1 : 128	1 : 128	+	September	14 W	1 : 32	1 : 64
153	Juli	6 W	1 : 32	1 : 32	+	September	14 W	1 : 16	1 : 64

Tier Nr.	Aufstallung Impfung Monat	1. Impfung				2. Impfung			
		Alter des Tieres	HAH- Titer vor d. Impfg.	HAH- Titer 14 Tg. n. d. I.	Nasen- schl.- Probe	Monat	Alter des Tieres	HAH- Titer v.d. Impfg.	HAH- Titer 14 Tg. n. d. I.
154	Juli	4 W	1 : 128	1 : 64	+	September	12 W	1 : 32	1 : 32
155	Juli	5 W	1 : 128	1 : 128	—				
156	Juli	7 W	1 : 8	1 : 64	+	September	15 W	1 : 64	1 : 51
157	Juli	7 W	1 : 128	1 : 64	+	September	15 W	1 : 32	1 : 16
158	Juli	8 W	1 : 64	1 : 32	—	September	16 W	1 : 4	1 : 32
159	Juli	5 W	1 : 128	1 : 128		September	13 W	1 : 64	1 : 64
160	Juli	4 W	1 : 16	1 : 256	—	September	12 W	1 : 64	1 : 51
161	Juli	6 W	1 : 32	1 : 32	+	September	14 W	1 : 16	1 : 64
162	Juli	7 W	1 : 16	1 : 16		September	15 W	1 : 8	1 : 64
163	Juli	5 W	1 : 64	1 : 32	—	September	13 W	1 : 16	1 : 64
164	Juli	5 W	1 : 64	1 : 64	—	September	14 W	1 : 32	1 : 32
165	Juli	5 W	1 : 128	1 : 64	+	September	14 W	1 : 16	1 : 16
166	Juli	5 W	1 : 128	1 : 64		September	14 W	1 : 16	1 : 64
167	Juli	5 W	1 : 64	1 : 64	—	September	14 W	1 : 32	1 : 16
168	Juli	5 W	1 : 64	1 : 64	+	September	14 W	1 : 16	1 : 64
169	Juli	5 W	1 : 128	1 : 128	+	September	14 W	1 : 32	1 : 32
170	Juli	5 W	1 : 128	1 : 64	—	September	14 W	1 : 16	1 : 16
171	Juli	4 W	1 : 64	1 : 32	—	September	13 W	1 : 16	1 : 64
172	Juli	4 W	1 : 32	1 : 16	+	September	13 W	1 : 8	1 : 32
173	Juli	4 W	1 : 64	1 : 64	+	September	13 W	1 : 16	1 : 16
174	Juli	6 W	1 : 32	1 : 16	+	September	15 W	1 : 4	1 : 64
175	Juli	6 W	1 : 32	1 : 32		September	15 W	1 : 16	1 : 64
176	Juli	4 W	1 : 128	1 : 128	+	September	13 W	1 : 128	1 : 12
177	Juli	4 W	1 : 16	1 : 16	+	September	13 W	1 : 8	1 : 12
178	Juli	8 W	1 : 64	1 : 64	—	September	17 W	1 : 32	1 : 16
179	Juli	10 W	1 : 32	1 : 32	+	September	19 W	1 : 8	1 : 12
180	Juli	4 W	1 : 128	1 : 128	—	September	13 W	1 : 16	1 : 32
181	August	5 W	1 : 64	1 : 64					
182	August	5 W	1 : 64	1 : 64					
183	August	6 W	1 : 128	1 : 128					
184	August	4 W	1 : 64	1 : 64					

Tier Nr.	Aufstallung Impfung Monat	1. Impfung				2. Impfung			
		Alter des Tieres	HAH- Titer vor d. Impfg.	HAH- Titer 14 Tg. n. d. I.	Nasen- schl.- Probe	Monat	Alter des Tieres	HAH- Titer v.d. Impfg.	HAH- Titer 14 Tg. n. d. I.
185	August	6 W	1 : 16	1 : 16		November	19 W	1 : 16	
186	August	6 W	1 : 128	1 : 128		Oktober	17 W	1 : 64	
187	August	7 W	1 : 64	1 : 64		Oktober	18 W	1 : 32	
188	August	7 W	1 : 16	1 : 16		Oktober	18 W	1 : 64	
189	August	5 W	1 : 256	1 : 256		Dezember	24 W	1 : 64	1 : 64
190	August	3 W	1 : 32	1 : 32		Dezember	22 W	1 : 128	1 : 512
191	August	6 W	1 : 4	1 : 4		Dezember	25 W	1 : 128	1 : 128
192	August	6 W	1 : 16	1 : 16		Dezember	25 W	1 : 256	1 : 256
193	August	4 W	1 : 4	1 : 64		Dezember	23 W	1 : 256	1 : 256
194	August	4 W	1 : 16	1 : 16		Dezember	23 W	1 : 128	1 : 256
195	August	4 W	1 : 256	1 : 256		Dezember	23 W	1 : 64	1 : 128
196	August	5 W	1 : 32	1 : 32		Dezember	24 W	1 : 64	1 : 128
197	August	5 W	1 : 64	1 : 64		Dezember	24 W	1 : 128	1 : 256
198	August	4 W	1 : 128	1 : 64		Dezember	21 W	1 : 64	1 : 64
199	August	6 W	1 : 8	1 : 32		Dezember	23 W	1 : 512	1 : 512
200	August	4 W	1 : 64	1 : 64					
201	August	7 W	1 : 4	1 : 128					
202	September	4 W	1 : 4	1 : 32		Dezember	18 W	1 : 256	1 : 512
203	September	5 W	1 : 256	1 : 256		Dezember	19 W	1 : 32	1 : 128
204	September	7 W	1 : 64	1 : 64		Dezember	21 W	1 : 64	1 : 64
205	September	7 W	1 : 64	1 : 64		Dezember	21 W	1 : 256	1 : 256
206	September	4 W	1 : 128	1 : 64		Oktober	8 W	1 : 32	
207	September	5 W	1 : 128	1 : 64		Dezember	19 W	1 : 64	1 : 256
208	September	4 W	1 : 16	1 : 64		Oktober	8 W	1 : 128	
209	September	5 W	1 : 64	1 : 32		Dezember	19 W	1 : 16	1 : 32
210	September	6 W	1 : 64	1 : 32		Dezember	20 W	1 : 64	1 : 128
211	September	4 W	1 : 64	1 : 32		Oktober	8 W	1 : 64	
212	September	5 W	1 : 16	1 : 16					
213	September	5 W	1 : 512	1 : 256		Dezember	19 W	1 : 64	1 : 64
214	Oktober	5 W	1 : 8	1 : 32		Dezember	14 W	1 : 128	1 : 128
215	Oktober	4 W	1 : 256	1 : 256		Dezember	13 W	1 : 32	1 : 32

Tier Nr.	Aufstallung Impfung Monat	1. Impfung				2. Impfung			
		Alter des Tieres	HAH- Titer vor d. Impfg.	HAH- Titer 14 Tg. n. d. I.	Nasen- schl.- Probe	Monat	Alter des Tieres	HAH- Titer v.d. Impfg.	HAH- Titer 14 Tg. n. d. I.
216	Oktober	7 W	1 : 64	1 : 64		Dezember	16 W	1 : 16	1 : 32
217	Oktober	3 W	1 : 512	1 : 512		Dezember	12 W	1 : 128	1 : 64
218	Oktober	4 W	1 : 256	1 : 128					
219	Oktober	5 W	1 : 32	1 : 32		Dezember	14 W	1 : 128	1 : 256
220	Oktober	3 W	1 : 256	1 : 128		Dezember	12 W	1 : 64	1 : 32
221	Oktober	5 W	1 : 32	1 : 16		Dezember	14 W	1 : 32	1 : 16
222	Oktober	6 W	1 : 512	1 : 512		Dezember	15 W	1 : 128	1 : 32
223	Oktober	5 W	1 : 32	1 : 128		Dezember	14 W	1 : 32	1 : 64
224	Oktober	5 W	1 : 128	1 : 64		Dezember	14 W	1 : 16	1 : 64
225	Oktober	5 W	1 : 256	1 : 128		Dezember	12 W	1 : 32	1 : 32
226	Nov./Dez.	16 W	1 : 16	1 : 16					
227	Nov./Dez.	12 W	1 : 16	1 : 16					
228	Nov./Dez.	16 W	1 : 128	1 : 512					
229	Nov./Dez.	4 W	1 : 16						
230	Nov./Dez.	8 W	1 : 32	1 : 32					
231	Nov./Dez.	9 W	1 : 256						
232	Nov./Dez.	9 W	1 : 128	1 : 64					
233	Nov./Dez.	10 W	1 : 128	1 : 64					
234	Nov./Dez.	9 W	1 : 64						
235	Nov./Dez.	18 W	1 : 128	1 : 512					
236	Nov./Dez.	11 W	1 : 32	1 : 256					
237	Nov./Dez.	11 W	1 : 4	1 : 128					
238	Nov./Dez.	9 W	1 : 128	1 : 64					
239	Nov./Dez.	9 W	1 : 16	1 : 256					
240	Nov./Dez.	12 W	1 : 256	1 : 128					
241	Nov./Dez.	10 W	1 : 128	1 : 64					
242	Nov./Dez.	11 W	1 : 32	1 : 64					
243	Nov./Dez.	8 W	1 : 16	1 : 256					
244	Nov./Dez.	10 W	1 : 32	1 : 256					
245	Nov./Dez.	10 W	1 : 64	1 : 128					
246	Nov./Dez.	12 W	1 : 4	1 : 1024					

Tier Nr.	Aufstallung Impfung Monat	1. Impfung		
		Alter des Tieres	HAH- Titer vor d. Impfg.	HAH- Titer 14 Tg. n. d. I.
247	Nov./Dez.	12 W	1 : 64	1 : 32
248	Nov./Dez.	11 W	1 : 64	1 : 128
249	Nov./Dez.	11 W	1 : 32	1 : 128
252	Nov./Dez.	16 W	1 : 64	1 : 128
255	Nov./Dez.	16 W	1 : 64	1 : 32
257	Nov./Dez.	14 W	1 : 32	1 : 128
258	Nov./Dez.	14 W	1 : 64	1 : 64
261	Nov./Dez.	8 W	1 : 256	1 : 64
262	Nov./Dez.	8 W	1 : 256	1 : 128
263	Nov./Dez.	8 W	1 : 256	1 : 128
264	Nov./Dez.	15 W	1 : 128	1 : 128
265	Nov./Dez.	8 W	1 : 64	1 : 32
266	Nov./Dez.	9 W	1 : 64	1 : 32
267	Nov./Dez.	8 W	1 : 256	1 : 64
268	Nov./Dez.	9 W	1 : 128	1 : 64
269	Nov./Dez.	9 W	1 : 128	1 : 32
270	Nov./Dez.	9 W	1 : 64	1 : 16
271	Nov./Dez.	9 W	1 : 512	1 : 256
272	Nov./Dez.	12 W	1 : 256	1 : 128
273	Nov./Dez.	7 W	1 : 512	1 : 256
274	Nov./Dez.	18 W	1 : 128	1 : 64

7.) Gesundheitskontrolle

Die im Rahmen der Vakzinierungsversuche durchgeführte Gesundheitskontrolle der Kälber erstreckte sich über den Zeitraum von April 1962 bis Ende Dezember 1962. Die Tiere wurden bei der Aufstallung, vor der Impfung und danach allwöchentlich untersucht. Die durchschnittliche Beobachtungsdauer betrug pro Tier etwa 8 Wochen. Nach der 2. Impfung war aus technischen Gründen eine weitere Beobachtung nicht mehr möglich.

Bei der Aufstallung in Grub hatten von 224 Kälbern 38 (17 %) Nasenausfluß, vorwiegend von seröser Beschaffenheit. Unter 150 Tieren, die 1–2 Tage nach der Aufstallung vakziniert wurden, zeigten 53 (35 %) am 3.–8. Tag p. vacc. serösen bis mukösen Nasenausfluß. In den folgenden 3 Wochen erhöhte sich die Zahl auf 75 (50 %) und hielt sich dann mit kleineren oder größeren Schwankungen auf diesem Niveau. Derselbe Vorgang konnte bei 49 Kälbern beobachtet werden, die erst 4–7 Wochen nach der Aufstallung geimpft wurden. Am Tag der Aufstallung hatten 6 (12 %) serösen Nasenausfluß und am 3.–8. Tag waren es 20 (41 %). Nach 15 Tagen zeigten bereits 29 Tiere (59 %) serösen oder mukösen Nasenausfluß. Kleinere Schwankungen in diesem Bild können durch das Wettergeschehen und das wechselnde Stallklima erklärt werden. Während der Untersuchungsperiode konnten 4 Erkrankungswellen in dem Versuchsstall beobachtet werden. Die erste war im Juni und dauerte ungefähr einen Monat. Über 60 % der Tiere hatten teils serösen, teils mukopurulenten Nasenausfluß und seröse Konjunktivitis. Einige husteten leicht. Der schwerste dieser Ausbrüche dauerte von Anfang August bis Mitte September. Etwa 50 % der Tiere hatten wochenlang mukopurulenten Nasenausfluß, 20 % litten ständig unter trockenem Husten und bei 15 % zeigten sich an der Nasenschleimhaut pfennig- bis markstückgroße, runde Erosionen. Die 3. Erkrankungsperiode ereignete sich direkt im Anschluß an die zweite, nachdem eine frische Gruppe Kälber hinzukam. Von Anfang November bis Anfang Dezember war ein Ausbruch mit vorwiegend mukösem und serösem Nasenausfluß, in dessen Verlauf bei 50 % der Tiere Husten beobachtet werden konnte, der wochenlang bestehen blieb. Außerdem sah man vermehrt Durchfall. Verluste wurden nicht verursacht.

Einschränkend zu diesen Prozentangaben muß erwähnt werden, daß während der ganzen Beobachtungszeit ständig neue Tiere aufgestellt und ältere Tiere umgestallt wurden. Dadurch erhöhen sich die angegebenen Zahlen im Hinblick auf die klinischen Symptome wesentlich.

D) BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Von 265 Versuchskälbern im Alter von 3–21 Wochen und 99 Schlachtkälbern hatten insgesamt 326 (90%) positive und 38 (10%) negative Hämagglutinationshemmungstiter im Serum gegenüber dem Virus der Parainfluenza-3. Bei ähnlichen Versuchen in Schweden fand man bei 47% der Kälber Serumantikörper gegenüber dem Parainfluenza-3-Virus (9). Woods (75) berichtet über 33% und Bögel (17) über 68,5%. Vergleicht man diese Prozentzahlen mit unseren Ergebnissen, so fällt auf, daß in unseren Untersuchungen 90% der Versuchstiere Antikörper besaßen. Das läßt sich vielleicht dadurch erklären, daß unsere Kälberpopulation im Durchschnitt jünger war als die Vergleichspopulation anderer Autoren. Bögel unterteilt die Tiere mit positiven Serumtitern in solche mit aktiv gebildeten und solche mit passiv über die Kolostralmilch erworbenen Antikörpern. Wir möchten uns dieser Ansicht anschließen, glauben jedoch, daß es sich bei unseren Befunden hauptsächlich um passive, also Kolostralantikörper handelte, da die Versuchstiere in der Regel sehr jung waren. Durch das Kolostrum bekommt das Kalb einen gewissen passiven Schutz, der nach den ersten Lebenswochen allmählich abnimmt. Dafür sprechen auch unsere relativ häufigen negativen Serumwerte bei älteren Tieren.

Eine Vakzinierung der Versuchstiere mit einem über die Gewebekultur in seiner Virulenz für das Kalb abgeschwächten Lebendimpfstoff führte im allgemeinen zu einem Anstieg oder zur Bildung von hämagglutinationshemmenden Antikörpern im Serum. Die erste Impfung erfolgte bei 178 Kälbern gleichzeitig intranasal und intramuskulär, bei 87 Kälbern nur intramuskulär.

Kälber mit Ausgangstitern von 1 : 8 oder kleiner, reagierten in der Regel auf die Impfung mit einem deutlichen Titeranstieg im Serum. Bei Tieren über 12 Wochen spielte der Ausgangstiter keine wesentliche Rolle mehr für den Nachweis einer signifikanten serologischen Reaktion im Anschluß an die Impfung. Diese Kälber hatten fast durchweg niedrige Ausgangstiter. Anders verhielten sich diejenigen Tiere, die vor der Impfung einen gewissen passiven Serumtiter besaßen. Bei ihnen war häufig im Anschluß an die Impfung kein Antikörperanstieg zu beobachten. Der Impftiter entsprach dem Ausgangstiter und sank häufig 2–3 Monate p. vacc. bis unter 1 : 16 ab. Dies mag vielleicht ein Zeichen dafür sein, daß die aktive Bildung von Antikörpern durch das Vorhandensein passiver Kolostralantikörper verschleiert wird. Zu gleichen Ergebnissen kommen Bögel und Liebelt (17).

2–3 Monate p. vacc. war bei 66% der Impflinge der Serumantikörpertiter sogar teilweise signifikant abgesunken. Interessant war, daß es sich bei diesen Kälbern sowohl um solche Tiere handelte, die auf die Impfung mit einem deutlichen Antikörperanstieg reagierten als auch um Tiere, bei denen der Impftiter gegenüber dem Ausgangstiter gleich geblieben war.

Auf die zweite Impfung reagierte die Mehrzahl der vakzinierten Tiere (59%) mit einem Antikörperanstieg gegenüber dem Parainfluenza-3-Virus. Tiere, die nach der ersten Impfung einen deutlichen Antikörperanstieg gezeigt hatten, wiesen nach der 2. Impfung wiederum einen Anstieg der Serumantikörper auf. Bei den restlichen Kälbern (41%) kam es im Anschluß an die 2. Impfung zu keinem Antikörperanstieg mehr. Die Titer entsprachen den Werten 2–3 Monate nach der 1. Impfung.

Auffallend war, daß bei 13 Kälbern die Antikörper in der Zeit zwischen 14 Tage p. vacc. und 2–3 Monate p. vacc. signifikant angestiegen waren. Davon entfielen auf die Monate November/Dezember allein 10 Tiere, während von April bis November bei einer viel größeren Population nur 3 Kälber einen signifikanten Titeranstieg zeigten. Es erhebt sich die Frage, ob diese Tiere in der Zwischenzeit einer Infektion mit einem Parainfluenza-3-Wildstamm ausgesetzt waren. Nach Bögel kommt es als Folge einer intranasalen Impfung neben der humoralen auch zu einer örtlichen Schleimhautimmunität. Unter dieser Voraussetzung ist nicht auszuschließen, daß alle bis zum August intranasal und intramuskulär geimpften Kälber eine örtliche Gewebssimmunität besaßen. Die in den Herbstmonaten geimpften Tiere wurden alle nur intramuskulär vakziniert. Bei ihnen wäre die Möglichkeit einer Virusaufnahme über die Nasenschleimhäute möglich gewesen, zumal das Virus der Parainfluenza-3 nach Bögel vorwiegend in den Herbstmonaten zu nachweisbaren Infektionen bei Kälbern führt. Andererseits ist nicht auszuschließen, daß das Impfvirus bei diesen Kälbern nur über einen längeren Zeitraum im Organismus persistierte und es dadurch zu einem verspäteten Antikörperanstieg kam. Es bleibt die Frage zu klären, ob und inwieweit die örtliche Gewebssimmunität tatsächlich eine Infektion mit einem Wildvirus verhindern kann.

Die Bildung bzw. den Anstieg hämagglutinationshemmender Antikörper im Anschluß an die Impfung mit einer Parainfluenza-3-Lebendvakzine bei Kälbern möchten wir als einen Beweis für die Wirksamkeit des Impfstoffes ansehen. Es muß allerdings einschränkend gesagt werden, daß es in der Regel nur bei den Kälbern zu einer deutlichen serologischen Reaktion kam, die vor der Impfung keinen oder nur einen sehr niedrigen Antikörpertiter

im Serum aufwiesen. Bei Kälbern, die über einen hohen passiven Kolostraltiter verfügten, schien es nur in wenigen Fällen zur Ausbildung einer aktiven humoralen Immunität zu kommen. Inwieweit die intranasale Impfung, die bei etwa zwei Drittel der Tiere durchgeführt wurde, zu einer örtlichen Gewebssimmunität führte, kann nicht entschieden werden. Während hohe Impftiter in der Regel noch nach 2 Monaten p. vacc. in gleicher Höhe nachweisbar waren, berichtet Woods (74), daß es bei Kälbern, die mit einer Totvakzine geimpft wurden, zwar zu einem signifikanten Anstieg der hämagglutinationshemmenden Antikörper im Serum kam, diese aber bereits nach 39 Tagen p. vacc. annähernd wieder auf den Ausgangstiter absanken. Neben der Wirksamkeit einer Lebendvakzine steht die Forderung nach Unschädlichkeit. Obwohl bei unseren Versuchstieren gelegentlich Nasenausfluß, Husten und Durchfall auftraten, glauben wir nicht, daß der Impfstoff dafür verantwortlich gemacht werden kann. Dafür spricht der häufige Befund bei Kälbern, die bereits vor der Impfung diese Symptome gezeigt haben. Außerdem klagte der Betrieb schon vor Versuchsbeginn über diese Erscheinungen. Somit scheint der von uns geprüfte Parainfluenza-3-Lebendimpfstoff auch der Forderung nach Unschädlichkeit gerecht zu werden.

E) ZUSAMMENFASSUNG

364 Kälberseren wurden auf das natürliche Vorkommen von hämagglutinationshemmenden Antikörpern gegenüber dem Myxovirus Parainfluenzae-3 untersucht. Darunter waren 326 (90%) positive und 38 (10%) negative Seren.

Daraufhin sind 265 Jungkälber eines Mastbetriebes mit einem Lebendimpfstoff aus Zellkulturen gegen die Parainfluenza-3-Infektion vakziniert worden. Die Applikation erfolgte bei 178 Kälbern intranasal und intramuskulär, bei 87 Kälbern nur intramuskulär.

Nach der 1. Impfung hatten 23% der Versuchstiere einen Anstieg hämagglutinationshemmender Antikörper im Blutserum. Dabei handelte es sich vorwiegend um Tiere mit niedrigem Ausgangstiter (1 : 4—1 : 32). Bei Tieren mit höherem Ausgangstiter (1 : 64—1 : 512) war in der Regel ein Gleichbleiben oder Abfallen des Antikörpertiters im Serum festzustellen.

2—3 Monate nach der 1. Impfung wurden von 187 geimpften Kälbern nochmals Blutproben untersucht um die Titer der gebildeten hämagglutinationshemmenden Antikörper in Bezug auf die Dauer der Persistenz zu kontrollieren. 67% der Titer waren abgesunken, 19% blieben gleich und 14% stiegen an. Auf die 2. Impfung mit der Lebendvakzine reagierten von 151 Kälbern 59% mit einem Antikörperanstieg im Serum.

Die Bildung bzw. der Anstieg hämagglutinationshemmender Antikörper im Anschluß an die Impfung mit einer Parainfluenza-3-Lebendvakzine bei Kälbern und die gute Verträglichkeit wird als Beweis für die Wirksamkeit und Unschädlichkeit des Impfstoffes angesehen.

F) LITERATURVERZEICHNIS

- 1 Abinanti, F. R., Byrne, R. J.,
Watson, R. L., Poelma, L. J.,
Lucas, F. R., Huebner, R. J.:
Am. J. Hyg. **71**, 52 (1960)
- 2 Abinanti, F. R., Chanock, R. M.,
Cook, M. K., Wong, D.,
Warfield, M.:
Proc. Soc. Exp. Biol. Med.
106, 466, (1961)
- 3 Abinanti, F. R., Hoerlein, A. B.,
Watson, R. L., Huebner, R. J.:
J. Immunology **86**, 505 (1961)
- 4 Abinanti, F. R., Huebner, R. J.:
Virology **8**, 391 (1959)
- 5 Adams, O. R., Brown, W. W.,
Chow, T. L., Collier, J. R.,
Davis, R. W., Griner, L. A.,
Jensen, R., Pierson, R. E.,
Wayt, L. K.:
J. Am. Vet. Med. Ass. **134**, 85 (1959)
- 6 Andrews, C. H., Bang, F. B.,
Burnet, F. M.:
Virology **1**, 176 (1955)
- 7 Andrews, C. H., Bang, F. B.,
Chanock, R. M., Zhdanov, V. M.:
Virology **8**, 129 (1959)
- 8 Bakos, K., Dinter, Z.:
Nature **185**, 549 (1960)
- 9 Bakos, K., Dinter, Z.:
Zbl. Bakt. I, Orig. **180**, 1 (1960)
- 10 Berry, D. M.:
Vet. Bull. **32**, 725 (1962)
- 11 Bloom, H. H., Johnson, K. M.:
Am. J. Hyg. **74**, 50 (1961)
- 12 Bögel, K., Böhm, H.:
Zbl. Bakt. I, Orig. **187**, 2 (1962)
- 13 Bögel, K., Klinger, L.:
Mh. Tierheilk. **13**, 129 (1961)
- 14 Bögel, K., Klinger, L.:
Mh. Tierheilk. **13**, 162 (1961)
- 15 Bögel, K., Klinger, L.:
Mh. Tierheilk. **14**, 77 (1962)
- 16 Bögel, K., Korn, G.,
Lorenz, R. J.:
Mh. Tierheilk. **14**, 277 (1962)
- 17 Bögel, K., Liebelt, J.:
Berl. u. Mün. T. W. **75**, 423 (1962)
- 18 Bögel, K., Liebelt, J.:
Mh. Tierheilk. **15**, 191 (1963)
- 19 Borgen, H. Ch.:
Zbl. Bakt. Ref. **182**, 254 (1962)
- 20 Borgen, H. Ch., Dinter, Z.:
Nord. Vet. Med. **13**, 644 (1961)
- 21 Borgen, H. Ch., Dinter, Z.:
Zbl. Bakt. Ref. **184**, 394 (1962)
- 22 Byrne, R. J., Abinanti, F. R.,
Huebner, R. J.:
Cornell Vet. **51**, 211 (1961)
- 23 Chanock, R. M., Parrot, R. H.,
Cook, K., Andrews, B. F.,
Bell, J. A., Reichelderfer, T.,
Kapikian, A. Z., Mastrota, F. M.,
Huebner, R. J.:
New Engl. J. Med. **258**, 207 (1958)

- 24 Chanock, R. M., Vargosko, H.,
Luckey, A., Cook, M. K.,
Kapikian, A. Z., Reichelderfer, T.,
Parrot, R. H.:
J. Am. Med. Ass. **169**, 548 (1959)
- 25 Chanock, R. M., Wong, D. C.,
Huebner, R. J.:
Am. J. Publ. Hlth. **50**, 1858 (1960)
- 26 Cohen, S. M., Bullivant, S.:
Arch. Ges. Virusf. **11**, 493 (1962)
- 27 Deibel, R.:
Virology **8**, 262 (1959)
- 28 Deibel, R., Hotchin, J.:
Virology **14**, 66 (1961)
- 29 Dick, E. C., Mogabgab, W. J.:
Am. J. Hyg. **73**, 263 (1961)
- 30 Dinter, Z., Bakos, K.:
Arch. Exp. Vet. Med. **15**, 216 (1961)
- 31 Dinter, Z.:
Vet. Bull. **31**, 71 (1960)
- 32 Dinter, Z., Bakos, K.:
Bull. Off. Intern. Epiz. **56**, 29 (1961)
- 33 Dinter, Z., Hermodsson, S.,
Bakos, K.:
Acta Path. Microb. Scand. **49**, 485 (1960)
- 34 Dinter, Z., Hansen, H. J.,
Roneus, O.:
Zbl. Vet. Med. **9**, 739 (1962)
- 35 Dossena, G. Bellelli, E.:
Zbl. Bakt. Ref. **186**, 192 (1962)
- 36 Dulbecco, R., Vogt, M.:
J. Exp. Med. **99**, 167 (1954)
- 37 Evans, A. S.:
New Engl. J. Med. **263**, 233 (1962)
- 38 Frothingham, T. E.,
Sanyakorn, Ch. K.:
Publ. Health Rep. **76**, 765 (1961)
- 39 Gale, C., King, N. B.:
J. Am. Vet. Med. Ass. **138**, 235 (1961)
- 40 Gressner, I., Enders, J. F.:
Virology **13**, 420 (1961)
- 41 Gründer, H. D., Reuleaux, I. R.,
Ließ, B.:
DTW **67**, 514 (1960)
- 42 Hamparian, V. V., Washko, F. V.,
Ketler, A., Hilleman, M. R.:
J. Immunology **87**, 139 (1961)
- 43 Heddleston, K. L., Reisinger, R. C.,
Watko, L. P.:
Am. J. Vet. Res. **23**, 548 (1962)
- 44 Hermodsson, S., Dinter, Z.,
Bakos, K.:
Acta Path. Microb. Scand. **51**, 75 (1961)
- 45 Hoerlein, A., Mansfield, M. E.,
Abinanti, F. R., Huebner, R. J.:
J. Am. Vet. Med. Ass. **135**, 153 (1959)
- 46 Hoerlein, A., Saxena, S. P.,
Mansfield, M. E.:
Am. J. Vet. Res. **22**, 470 (1961)
- 47 Huck, R. A.:
Vet. Bull. **32**, 493 (1962)
- 48 Jensen, K. E., Peeler, B. E.,
Dulworth, W. G.:
J. Immunology **89**, 216 (1962)
- 49 Kapikian, A. Z., Chanock, R. M.:
J. Am. Med. Ass. **178**, 537 (1961)
- 50 Ketler, A., Hamparian, V. V.,
Hilleman, M. R.:
J. Immunology **87**, 126 (1961)

- 51 La Placa, M., Moscovici, C.: J. Immunology **88**, 72 (1962)
- 52 Lewis, F. A., Lehmann, N. J.: Med. J. Australia **2**, 929 (1961)
- 53 Maasab, H. F., Loh, P. C.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **109**, 897 (1962)
- 54 Madin, S. H., York, C. J., McKercher, D. G.: Science **124**, 721 (1956)
- 55 Marston, R. Q.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **98**, 853 (1958)
- 56 Mayr, A.: Arch. Ges. Virusf. **9**, 157 (1959)
- 57 McClelland, L., Hampil, B., Hamparian, V. V., Potash, A., Ketler, A., Hilleman, M. R.: J. Immunology **87**, 134 (1961)
- 58 McKinney, R.: Am. J. Hyg. **70**, 280 (1959)
- 59 Noice, F., Schipper, J. A.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **100**, 84 (1959)
- 60 Nystedt, H.: Ref. Zbl. Bakt. **179**, 550 (1961)
- 61 Reczko, E., Bögel, K.: Arch. ges. Virusf. **12**, 404 (1962)
- 62 Reisinger, R. C., Heddlestone, K. L., Mantei, C. A.: J. Am. Vet. Med. Ass. **135**, 147 (1959)
- 63 Rice, Ch. E.: Vet. Science **25**, 151 (1961)
- 64 Schoop, G., Wachendörfer, G.: DTW **69**, 416 (1962)
- 65 Siegert, R., Enders, G.: DMW **86**, 1893 (1961)
- 66 Stevanov, S. B.: Acta Virolog. **5**, 128 (1961)
- 67 Van der Veen, J., Smeur, F. A.: Am. J. Hyg. **74**, 326 (1961)
- 68 Vardaman, T. H., Heddlestone, K. L.: Am. J. Vet. Res. **23**, 827 (1962)
- 69 Waterson, A. P., Jensen, K. E., Tyrell, D. A. J., Horne, R. W.: Virology **14**, 374 (1961)
- 70 Waterson, A. P.: Nature **193**, 1163 (1962)
- 71 Waterson, A. P., Hurrell, J. M. W.: Arch. Ges. Virusf. **12**, 138 (1962)
- 72 Wizigmann, G.: Inaug. Dissert. München (1962)
- 73 Woods, G. T., Sinka, S. K.: Am. J. Med. Ass. **139**, 1208 (1961)
- 74 Woods, G. T., Segre, D.: Am. J. Vet. Res. **23**, 987 (1962)
- 75 Woods, G. T., Mansfield, M. E.: Am. J. Vet. Res. **23**, 832 (1962)
- 76 Youngner, J. S.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **85**, 202 (1954)

G) LEBENS LAUF

Am 27. März 1938 wurde ich, Wolfgang Weisser, als Sohn des praktischen Arztes Dr. med. Hans Weisser und seiner Ehefrau Luise, geb. Holz, in Tailfingen/Württbg. geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Tailfingen ging ich von 1948—1952 in die dortige Mittelschule. 1952 wechselte ich an das Gymnasium in Ebingen/Württemberg und beendete dort im März 1957 die Schulausbildung mit dem Abitur.

Im Sommersemester 1957 begann ich in München an der Tierärztlichen Fakultät der Universität mit dem Studium der Veterinärmedizin. Dieses schloß ich im März 1962 nach Bestehen des tierärztlichen Staatsexamens in München ab.

Zum Schluß meiner Arbeit möchte ich Herrn Prof. Dr. A. Mayr und Herrn Dr. J. Pette für die freundliche Überlassung des Themas danken. Für hilfreiche Unterstützung gilt Herrn Prof. Dr. M. Rolle und für wertvolle Hinweise während der Bearbeitung des Themas Herrn Dr. J. Pette und Herrn Dr. G. Wizigmann mein besonderer Dank.

